

RYSZARD RUDNICKI

Zakład Fizjologii Roślin Sadowniczych Instytutu Sadownictwa — Skierniewice

KWAS ABCYSYNOWY — NOWY HORMON ROŚLINNY

Badania prowadzone w ostatnich latach doprowadziły do wykrycia wielu nowych czynników wzrostowych roślin, w wielu przypadkach pozwoliły na określenie ich roli biologicznej, a niekiedy umożliwiły również wniknięcie w mechanizm ich działania. Dotyczy to w pierwszym rzędzie substancji takich, jak auksyny, gibereliny czy cytokininy stymulujących wzrost i rozwój roślin. Dotychczasowe dane dotyczące regulatorów wzrostu posiadających zdolność hamowania procesów rozwoju i wzrostu wskazywały na znaczne zróżnicowanie tych związków zarówno pod względem budowy chemicznej jak i funkcji biologicznej.

Naturalne inhibitory kiełkowania nazwane przez Köckemanna „blastocholinami” są szeroko rozpowszechnione w owocach, okrywach nasiennych i soku owoców wielu roślin. Köckemann (20, 21), dążąc do zidentyfikowania blastocholin, wyizolował z roślin wielu gatunków termostabilny czynnik rozpuszczalny w wodzie i rozpuszczalnikach organicznych, hamujący kiełkowanie nasion. Jak się następnie okazało, czynnik ten składał się z kilku związków wywierających efekt hamowania w testach wzrostowych. W 1953 r. Bennet Clark i Kefford, badając chromatograficznie ekstrakt eterowy z ziemniaka, wykazali obecność substancji hamujących wzrost, lokujących się w układzie izopropanol-uwodniony amoniak w paśmie o R_f 0,6—07 (5). Substancje te zostały przez autorów nazwane inhibitorem β . W skład inhibitora β miałyby wchodzić rozpuszczalne w eterze związki chemiczne o charakterze kwaśnym, będące słabymi inhibitorami procesów wzrostowych a wykazujące wyraźną efektywność jedynie w kompleksie.

Varga (41) pośrednio udowodniła, że preparat blastocholinowy Köckemanna jest identyczny z inhibitorem β . Inhibitory kompleksu β (działające synergistycznie) według Varga i Ferenczy występują w wegetatywnych tkankach roślinnych i w miąższu owoców. Według Clark i Kefforda inhibitor β jest odpowiedzialny za indukowanie stanu spoczynku u bulw ziemniaka. Podobnie Hemberg (16, 17), badając różne odmiany ziemniaka o niejednakowo długim okresie spoczynku, wykazał zależność między długością tego okresu a występowaniem w oczkach ziemniaków

kompleksu inhibitora β . Również Eagles, Wareing i Robinson (13, 14, 43) uważają, że kompleks inhibitora β jest odpowiedzialny za indukowanie stanu spoczynku w platanie i brzozie. Wykazano także, że inhibitor β hamuje proces fosforylacji oksydatywnej i inaktywuje takie enzymy, jak α -amylazę, inwertazę i celulazę (11, 17, 42).

W 1963 r. Wareing podjął wraz ze współpracownikami (3, 4, 13, 14, 34, 35, 40, 42, 43) badania nad inhibitorem pojawiającym się w liściach platanu i brzozy w zależności od warunków fotoperiodycznych. Badania te doprowadziły do wykrycia inhibitora nagromadzającego się w warunkach krótkiego dnia i powodującego hamowanie wzrostu siewek i tworzenie się typowych pąków spoczynkowych. Substancja ta została nazwana „dorminą” a następnie wyodrębniona przez Cornfortha i współpracowników (8, 9) w formie krystalicznej.

Niezależnie od powyższych prac prowadzono pod kierunkiem Addicotta próby wyizolowania z owoców bawełny czynnika odpowiedzialnego za opadanie owoców tej rośliny (1, 27). Prace te doprowadziły do wyodrębnienia z materiału roślinnego substancji o charakterze silnego defolianta „abscysyny” (od abscission — odpadanie) (23).

W toku dalszych badań nad substancjami powodującymi opadanie owoców i liści bawełny, wydzielił Addicott wraz ze współpracownikami drugi czynnik, który nazwał abscysyną II (1, 2, 27). Abscysyna II różni się od abscysyny I własnościami fizycznymi, a co za tym idzie i budową chemiczną, a przede wszystkim aktywnością fizjologiczną, która jest ponad 10-krotnie większa. Cornforth i wsp. porównali działanie fizjologiczne i własności fizyko-chemiczne abscysyny II i dorminy i wykazali identyczność tych substancji (8). Ostatnio na Szóstej Międzynarodowej Konferencji o Roślinnych Substancjach Wzrostowych w Carleton (czerwiec, 1967) uchwalono jedną nazwę dla tej substancji — kwas abscysynowy (AbA).

Cornforth, Milborrow i Ryback opracowali w oparciu o zjawisko Cottona spektropolarymetryczną metodę oznaczania kwasu abscysynowego w ekstraktach roślinnych (9). Metoda ta opiera się na zjawisku zmiany skręcalności optycznej związku optycznie czynnego, jakim jest AbA przy charakterystycznej dla tego związku długości fali. Metoda ta jest jednak trudno dostępną ze względu na ogromny koszt aparatów i niewielką ich ilość w świecie. Za pomocą tej metody wykazano obecność kwasu abscysynowego m. in. w platanie (pąki), liściach brzozy, liściach kapusty, bulwie ziemniaka, owocu cytryny, pędach śliwy i in. (9, 25). Oprócz tego znaleziono kwas abscysynowy w liściach i owocach jabłoni (25, 33), nasieniu brzoskwini (22), żółtym łubinie (10), grochu (12), owocach truskawki (36) i in. Stwierdzono również, że stężenie AbA w tkankach roślinnych jest różne dla różnych roślin i różnych organów roślinnych i waha się od

Tabela 1

Porównanie wartości R_F dla auksyn i inhibitora β z różnych roślin z R_F czystego IAA i kwasu abscysynowego

System chromatografii (v/v)		Organ	Literatura	R_F	
A = wstępująca	D = zstępująca			1 — aktywność auksyny	2 — inhibitor β
1. butanol	(5)	pędy śliw	Barlow, Hancock i Lacy, 1961	(1) —	(1) 0,34—0,36
amoniak	(1)			(2) 0,6—0,7	(2) 0,61—0,64
propanol	(5)				
Woda	(1)				
D					
Izopropanol	(10)	pędy fasoli	Bennet- Clark i Kefford, 1953	(1) 0,29—0,37	(1) 0,43
Woda	(1)			(2) 0,49—0,71	(2) 0,55—0,62
(atmosfera wysycona amoniakiem.)					
D					
Izopropanol	(40)	liście brzozy	Eagles i Wareing 1963	(1) 0,3—0,5	(1) 0,42—0,46
Amoniak	(0,1)			(2) 0,65—0,95	(2) 0,73—0,78
Woda	(9,9)				
D					
Izopropanol	(10)	pąki srebr- nego klonu	Lane i Bailey, 1964	(1) —	(1) 0,47—0,5
Amoniak	(1)			(2) 0,60—0,7	(2) 0,71—0,72
Woda	(1)				
A					
Etanol	(80)	pąki srebr- nego klonu	Lane i Bailey, 1964	(1) —	(1) 0,61—0,64
Amoniak	(5)			(2) 0,75—0,95	(2) 0,82—0,84
Woda	(15)				
A					
Butanol	(4)	pąki srebr- nego klonu	Lane i Bailey, 1964	(1) —	(1) 0,89—0,91
Kwas octowy	(1)			(2) 0,77—0,93	(2) 0,89—0,91
Woda	(5)				
A					
Izopropanol	(68)	pąki srebr- nego klonu	Lane i Bailey, 1964	(1) —	(1) 0,63
Izopropanol	(2)			(2) 0,58—0,87	(2) 0,80—0,83
Butanol	(2)				
Etanol	(5)				
Woda	(6)				
A					

dalszy ciąg tabeli 1

System chromatografii (v/v) A = wstępująca D = zstępująca		Organ	Literatura	R _F	
				1 — aktywność auksyny	R _F 1 — IAA 2 — AbA
				2 — inhibitor β	
Izopropanol	(10)	bulwy	Hemberg,	(1) 0,2—0,4	(1) 0,44—0,48
Amoniak	(1)	ziemnia-	1958		
Woda	(1)	ków		(2) 0,4—0,7	(2) 0,69—0,74
A					
Butanol nasycony 1,5 N amoniakiem		bulwy ziemnia-	Housley i Taylor,	(1) 0,25	(1) 0,29
D		ków	1958	(2) 0,6	(2) 0,56—0,62
n-butanol	(10)	nasiona	Jackson i	(1) 0,15—0,25	(1) 0,24—0,27
Amoniak	(1)	róży	Blundell,		
Woda	(1)		1963	(2) 0,4—0,55	(2) 0,54—0,56
D					
Izopropanol	(40)	liście	Robinson	(1) 0,35	(1) 0,36—0,39
Amoniak	(1)	jaworu	i Wareing		
Woda	(1)		1964	(2) 0,6—0,8	(2) 0,69—0,72
D					
n-butanol	(5)	liście	Robinson	(1) —	(1) 0,23—0,24
Uwodniony amoniak		jaworu	i Wareing		
D	(1)		1964	(2) 0,4—0,6	(2) 0,59
Izopropanol	(8)	strąki	Van Ste-	(1) 0,4—0,5	(1) 0,64—0,66
25% amoniak	(1)	łubinu	veninck,		
Woda	(1)	żółtego	1959	(2) 0,5—0,8	(2) 0,69—0,79
A					

Wartości R_f inhibitora β w podanych układach chromatograficznych stosowanych przez cytowanych w tabeli autorów zgadzają się z wartościami R_f kwasu abscysynowego. Obserwowane różnice mogły być spowodowane współdziałaniem innych substancji obecnych w ekstraktach, a także różnicami w technice chromatograficznej. Kwas indolooctowy (IAA) stosowano jako wskaźnik. Kwas abscysynowy (AbA) zidentyfikowano we wszystkich przedstawionych w tabeli roślinach.

kilkudziesięciu mikrogramów do kilku miligramów na kg świeżej masy (9, 25). W świetle tych danych powstaje pytanie czy można identyfikować równie powszechnie występujący kompleks inhibitora β z kwasem abscysynowym, czy też AbA jest częścią składową inhibitora β ?

Milborrow przeprowadził porównanie wartości R_f inhibitora β otrzymanego z różnych roślin z wartościami R_f kwasu abscysynowego w róż-

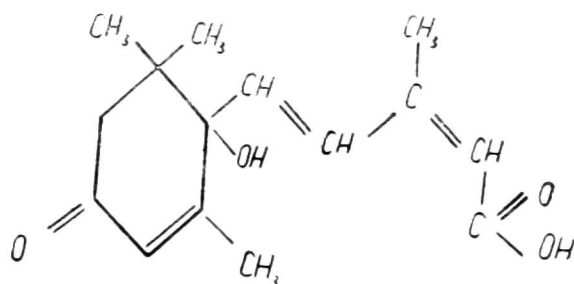
ných układach chromatograficznych i wykazał, że R_f kwasu abscysynowego mieściło się zawsze w paśmie R_f inhibitora β (tabela 1), (25). Stosując chromatografię na żelu krzemionkowym, Milborrow stwierdził ponadto, że wszystkie związki zawarte w frakcji kwaśnej wyodrębnione na żelu krzemionkowym z różnych roślin, dające efekt hamowania w teście kiełkowania zarodka pszenicy, dawały na spektropolarymetrze krzywą charakterystyczną dla kwasu abscysynowego. Porównał on również dane ilościowe uzyskane metodą spektropolarymetryczną oraz dane ilościowe z biotestów i wykazał ich zgodność. Rechromatografia inhibitora w kilku różnych układach chromatograficznych dawała zawsze w rezultacie pasmo wykazujące efekt hamowania w testach wzrostowych, którego krzywa pochłaniania w ultrafiolecie i krzywe spektropolarymetryczne były identyczne z krzywymi kwasu abscysynowego. Na podstawie tych danych Milborrow uważa, że aktywność inhibitora β jest uwarunkowana przede wszystkim obecnością AbA (inne kwasy organiczne obecne w paśmie R_f kwasu abscysynowego mają nieznaczną aktywność biologiczną) oraz, że najaktywniejszym znanym inhibitorem procesów wzrostowych w roślinie jest kwas abscysynowy.

Szerokie występowanie kwasu abscysynowego w roślinach różnych gatunków jest w świetle dotychczasowych danych związane z równoległym kontrolowaniem przez ten związek szeregu procesów fizjologicznych, jak opadanie liści i zawiązków owoców, zapadanie w stan spoczynku, hamowanie kiełkowania, regulacja kwitnienia w różnych warunkach fotoperiodycznych, różnicowanie się pąków kwiatowych i inne.

Własności fizykochemiczne kwasu abscysynowego (abscysyny II, dorminy)

Syntetyczny kwas abscysynowy jest związkiem racemicznym, natomiast AbA pochodzenia roślinnego jest związkiem optycznie czynnym, prawoskrętnym wykazującym pozytywny efekt Cottona z ekstremami przy 289 $m\mu$ ($\alpha + 24\ 000$) i 246 $m\mu$ ($\alpha - 69\ 000$) w zakwaszonym etanolowym roztworze. Maksimum pochłaniania w ultrafiolecie zakwaszonego etanolowego roztworu AbA wynosi 260 $m\mu$ a zasadowego 245 i 260 $m\mu$. Kwas abscysynowy rozpuszcza się w metanolu, etanolu, acetonie, octanie etylu, chloroformie, eterze etylowym, słabiej w eterze naftowym i wodzie, dobrze w roztworze kwaśnego węgla sodu. Związek ten jest dość silnym kwasem. Jego temperatura topnienia wynosi 160—161°C a ciężar cząsteczkowy 264. Na podstawie analizy elementarnej, interpretacji widma masowego, widma w podczerwieni i ultrafiolecie oraz magnetycznego rezonansu jądrowego Ohkuma i Addicott zaproponowali dla kwasu abscysynowego (abscysyny II) budowę kwasu 3-metylo-5/1-

-hydroksy-2, 6, 6, -trójmetylo 2-cykloheksen-1-yl/cis-trans pentadienowego (28) rys.



Kwas abscysynowy AbA

Cornforth i wsp. potwierdzili ten wzór na drodze syntezy (7). Syntetyczny kwas abscysynowy jako racemat posiada dwukrotnie mniejszą aktywność biologiczną od naturalnego inhibitora, ponieważ aktywny biologicznie jest tylko izomer prawoskrętny. Inhibitor abscysyna I odkryty przez Liu i Carnsa (23) jest związkiem o nieznannej strukturze chemicznej, o temperaturze topnienia 197—198° C, posiada własności słabego kwasu i rozpuszcza się w tych samych rozpuszczalnikach co AbA, jego aktywność biologiczna jest około 10-krotnie słabsza od aktywności kwasu abscysynowego w testach biologicznych.

Kwas abscysynowy jako regulator procesu opadania liści i owoców

Jeszcze w 1955 r. Osborne wykazała w liściach kilku gatunków roślin obecność substancji, która podawana na rośliny przyspieszała opadanie liści i owoców (29). Addicott wraz ze współpracownikami wyizolował z młodych owoców bawełny inhibitor hamujący działanie IAA w teście wzrostowym koleoptyle owsa (1, 2, 27). Dyfuzaty agarowe tych owoców zawierały czynnik, którego ilość zmieniała się z wiekiem owocu i osiągała maksimum między 5 a 7 dniem po zapyleniu, co wiązało się z okresem maksymalnego opadania nie rozwijających się zawiązków owoców bawełny. Stwierdzono również różnice w ilościach inhibitora w różnych częściach owocu. Najwięcej znaleziono go w osłonach dojrzałych i niedojrzałych owoców bawełny, mniej w nasionach. Stwierdzono również, że w odmianach bawełny, które charakteryzują się wyższym procentem odpadających młodych zawiązków, zawartość AbA jest odpowiednio wyższa (6, 27). Kwas abscysynowy przyspieszał także opadanie ogonków liściowych pozbawionych blaszek u kwitnących roślin bawełny, młodych siewek i młodych owoców w doświadczeniach przeprowadzonych w warunkach polowych.

W następnych pracach Addicott wykazał, że AbA przyspieszał opadanie liści i owoców *Pisum sativum*, *Citrus*, *Coleus* w tym samym

stopniu jak i bawełny. Na podstawie tych obserwacji autorzy postawili hipotezę, że proces opadania jest kierowany w różnych roślinach w podobny sposób oraz że endogenne substancje sterujące tym procesem w różnych roślinach są podobne lub identyczne z kwasem abscysynowym. Konsekwencją tej hipotezy był wniosek Addicotta, że kwas abscysynowy można będzie stosować jako silny defoliant w praktyce rolniczej. Z drugiej strony doświadczenia El-Antabły, Wareinga i Hillmana (4) z podaniem AbA na liście różnych odmian roślin drzewiastych i trawiastych w różnych stężeniach wykazały, że tylko w nielicznych gatunkach egzogenne podawany AbA przyspieszał opadanie liści. Autorzy ci wykazali ponadto, że działanie AbA może być częściowo zahamowane przez równoczesne podawanie IAA a także, że efekt działania egzogenne podawanego kwasu abscysynowego na roślinę jest uzależniony od metody jego podawania. Wykazano również stymulujący wpływ AbA na starzenie się liści niektórych gatunków roślin (tabela 2) (4). Stwierdzono, że spryskiwanie liści nawet bardzo wysokimi stężeniami synte-

Tabela 2

Działanie kwasu abscysynowego na starzenie się liści

<i>Prunus avium</i>	<i>Fugus sylvatica</i>
<i>Prunus domestica</i>	<i>Crataegus monogyna</i>
<i>Prunus spinosa</i>	<i>Quercus petraea</i>
<i>Robinia pseudoacacia</i>	<i>Betula pubescens</i>
<i>Populus alba</i>	<i>Ampelopsis veitchii</i>
<i>Acer pseudoplatanus</i>	<i>Pteridium aquilinum</i>
<i>Liriodendron tulipifera</i>	<i>Raphanus sativus</i>
<i>Vitis vinifera</i>	<i>Taraxacum officinale</i>
<i>Fraxinus excelsior</i>	<i>Ribes nigrum</i>

Gatunki roślin, które wykazują przyspieszenie starzenia się liści, jeżeli blaszki liściowe umieszczono w roztworze zawierającym kwas abscysynowy w stężeniach 5, 10 i 20 p.p.m.

tycznego kwasu abscysynowego nie dawało w efekcie wyraźnych oznak starzenia się, natomiast liście karmione roztworami AbA, AbA z gibbereliną lub z kinetyną we wszystkich przypadkach przyspieszały starzenie się. Starzenie się liści było słabsze przy podawaniu AbA w roztworach z gibbereliną i kinetyną niż przy podawaniu samego kwasu abscysynowego.

Wpływ kwasu abscysynowego na regulację stanu spoczynku roślin

Zagadnienie endogennej regulacji stanu spoczynku w roślinie jest od wielu lat przedmiotem badań m.in. grupy Wareinga w Anglii. Wy-

kazał on, że spoczynek pąków brzozy i klonu (*Acer pseudoplatanus*) jest regulowany przez kwas abscysynowy (13, 14, 34, 35). Inhibitor wyizolowany z liści brzozy (*Betula pubescens*) podawany w roztworze wodnym siewkom tej rośliny rosnącym w warunkach długiego dnia powodował zatrzymywanie intensywnego wzrostu i tworzenia się normalnych pąków spoczynkowych (13, 14). Wykazano również, że ilość AbA w pąkach wierzchołkowych i liściach platano, brzozy i czarnej porzeczki jest większa w roślinach żyjących w warunkach krótkiego dnia niż w tych samych roślinach w warunkach dnia długiego.

El-Antabły i wsp. w badaniach nad efektem działania syntetycznego kwasu abscysynowego na rośliny wykazali, że podawanie w sposób ciągły AbA do liści siewek kilku roślin drzewiastych powodowało zatrzymywanie się intensywnego wzrostu i tworzenie się typowych pąków spoczynkowych (4). Poza tym kwas abscysynowy hamował wzrost niespoczynkowych pąków ziemniaka, kiedy był podawany do całych bulw, jednakże jego działanie było dużo mniej efektywne, gdy podawano go do izolowanych pąków ziemniaka. Stwierdzono poza tym, że spryskiwanie liści ziemniaka roztworami AbA stymulowało tworzenie się bulw i powiększanie się średniej masy bulw w stosunku do nietraktowanej kontroli (tabela 3a i b) (4), przy równoczesnym silnym zahamowaniu wzrostu pędu. Efekt działania AbA jest tutaj podobny do efektu działania CCC, jednakże nie wiadomo czy podobny jest mechanizm działania obydwu związków.

Tabela 3

Działanie kwasu abscysynowego na tworzenie się bulw u ziemniaka
a. *Solanum andigena* (10 roślin na doświadczenie)

Lp.	Działanie kwasem abscysynowym liczba roślin		Kontrola liczba roślin	
	z bulwami	bez bulw	z bulwami	bez bulw
1	7	3	4	6
2	5	5	2	8
3	8	2	2	8
R a z e m	20	10	8	22

b. Odmiany „Ulster Premier” i „Ulster Prince”

Odmiany	Średnia świeża masa bulw (g)	
	traktowanych kwasem abscysynowym	kontrola
Ulster Prince	26,8	21,0
Ulster Premier	33,4	26,6

Stwierdzono, że zapoczątkowany przez krótki dzień stan spoczynku pąków brzozy i czarnej porzeczki może być przełamany przez kwas giberelinowy. Efektu tego nie powoduje natomiast podawanie IAA. Siewki brzozy, które wytworzyły pąki spoczynkowe, na skutek zewnętrznego podawania AbA odzyskiwały wzrost jeśli podawano im kwas giberelinowy lub jeżeli podawano im inhibitor wraz z kwasem giberelinowym i to w takim stopniu, że nie był widoczny efekt działania kwasu abscysynowego (14). Na podstawie tych danych autorzy postawili hipotezę, że kwas abscysynowy jest endogennym inhibitorem syntezy kwasu giberelinowego w roślinie.

Kwas abscysynowy jako inhibitor kiełkowania nasion i wzrostu

Addicott i wsp. stwierdzili, że AbA jest silnym inhibitorem stymulowanego przez IAA wzrostu koleoptyli owsa (1). Inni autorzy wykazali, że hamuje on również wzrost koleoptyli pszenicy (8, 33, 34), zarodków tej samej rośliny (10, 25), jak również mezokotyła owsa (24). Według Addicotta, w teście wydłużeniowym koleoptyla owsa hamowanie wzrostu zwiększa się w stosunku logarytmicznym ze wzrostem stężenia kwasu abscysynowego. Koleoptyle owsa hodowane w roztworze IAA o stężeniu 0,1 $\mu\text{g/ml}$ przestawały rosnąć, jeżeli równocześnie stężenie AbA w tym roztworze wynosiło 3, 10 lub 30 $\mu\text{g/ml}$. Milborrow (24) wykazał, że wzrost mezokotyła owsa stymulowany przez IAA lub kwasem giberelinowym jest hamowany przez równoczesne podanie AbA. Kwas abscysynowy hamuje także wzrost mezokotyła już w stężeniu 0,02 $\mu\text{g/ml}$. Zahamowanie wzrostu mezokotyła owsa wywołane podaniem AbA można było przełamać przez podanie mieszaniny IAA i kwasu giberelinowego. Z drugiej strony stwierdzono, że działanie AbA nie było konkurencyjne w stosunku do IAA ani w stosunku do kwasu giberelinowego nie podawanych łącznie. Ostatnio zwrócono uwagę, że kwas abscysynowy poza hamowaniem wzrostu roślin może powodować brak zdolności do kiełkowania nasion.

Lipe i Crane (22) wykazali, że kwas abscysynowy jest bardzo silnym inhibitorem kiełkowania nasion brzoskwini. Jego poziom w nasionach brzoskwini zmienia się w okresie stratyfikacji i spada do zera przed jej zakończeniem. Obecność w soku jabłek inhibitora silnie hamującego kiełkowanie nasion jabłoni i powodującego nienormalny wzrost siewek wykazał Kamiński (19). Inhibitor ten, który okazał się identyczny z kwasem abscysynowym (33), znajduje się również w okrywkach nasion jabłoni a jego aktywność, podobnie jak w nasionach brzoskwini, zanika pod koniec stratyfikacji (32).

Tabela 4

Wpływ kwasu abscysynowego na kiełkowanie stratyfikowanych nasion jabłoni (odmiany Antonówka)

Stężenia kwasu abscysynowego (AbA)	Procent zarodków wykiełkowanych po 3 dniach
0 (kontrola)	100
5 µg/ml	0
2,5 „	0
1,25 „	0
0,6 „	5
0,3 „	10

Pieniążek i Rudnicki (33) stwierdzili, że AbA już w stężeniu powyżej 0,6 µg/ml hamuje całkowicie kiełkowanie stratyfikowanych nasion jabłoni (tabela 4). Tłumaczą oni niekiełkowanie nasion wewnątrz owoców jabłoni przechowywanych dłuższy czas w niskiej temperaturze obecnością tego inhibitora w owocach. Syntetyczny kwas abscysynowy podawany stratyfikowanym nasionom w niższych stężeniach hamuje rozwój liści i syntezę chlorofilu nie powodując wyraźnych nekrotycznych uszkodzeń (37). Gibereliny A-1 i A-3 odwracały hamowanie rozwoju korzeni wywołane AbA ale nie wpływały na efekt zmienionej syntezy chlorofilu i osłabionego wzrostu liści. Hamowanie produkcji chlorofilu można było częściowo przełamać podając roślinom mieszaninę gibereliny A-3 i cytokininy.

Według Overbeeka (30), najbardziej wrażliwą na kwas abscysynowy a określano go wagowo. Wykrywalne zahamowanie wzrostu *L. minor* Wzrost wegetatywny *Lemna minor* odbywa się przez pączkowanie a określano go wagowo. Wykrywalne zahamowanie wzrostu *L. minor* dawało stężenie AbA tak niskie jak jedna część na miliard ($3,8 \times 10^{-9}$ M, a przy 1 p.p.m/ $3,8 \times 10^{-6}$ M) hamowało wzrost w 95%, niemniej można było przywrócić normalne tempo wzrostu przenosząc kulturę do świeżej pożywki nie zawierającej AbA. Po dziewięciu dniach hodowli w obecności niższych stężeń AbA rżesa zaczyna rosnać normalnie, nawet bez przenoszenia na świeżą pożywkę. Jednakże w stężeniu 1 ppm kultury pozostawały w spoczynku przez miesiąc i dłużej. Nawet takie kultury wracały do normalnego wzrostu na pożywce bez kwasu abscysynowego. Dodanie do pożywki benzyloadeniny lub innych cytokinin łącznie z AbA zapobiegało zahamowaniu wzrostu lub też znacznie je zmniejszało, w zależności od stężenia inhibitora (tabela 5) (30). Nie otrzymano jednak tego rodzaju pobudzania wzrostu po dodaniu kwasu giberelinowego lub auksyny razem lub bez kwasu abscysynowego. O podobieństwie mechanizmów kierujących wzrostem i kiełkowaniem w różnych gatunkach roślin

Tabela 5

Wpływ współdziałania kwasu abscysynowego i benzyloadeniny, dodanych równocześnie na wzrost kultury *Lemna minor*. Mierzono świeżą masę (mg) po 9 dniach hodowli. Początkowa masa wynosiła 8,0 mg

Benzylo-adenina (p.p.m.)	Kwas abscysynowy (p.p.m.)	
	0	1
0	130 ± 4,0	20 ± 0,7
0,1	229 ± 6,0	33 ± 1,5
1	252 ± 4,9	87 ± 2,6

może świadczyć fakt, że kwas abscysynowy hamuje także kiełkowanie nasion niektórych traw (38), mimo że znaleziono go i wyizolowano jako inhibitor wzrostu i regulator spoczynku w roślinach drzewiastych.

Kwas abscysynowy jako regulator kwitnienia

Zjawisko kwitnienia roślin jest jeszcze jednym procesem fizjologicznym regulowanym przy współdziałaniu kwasu abscysynowego (3, 4, 15, 26). Evans (15) wykazał, że jednorazowe podanie kwasu abscysynowego do liści lub w pobliżu wierzchołka pędu *Lolium temulentum* hodowanego przez jeden dzień w dniu długim sprzyjającym kwitnieniu tej rośliny powoduje znaczne zredukowanie efektu długiego dnia. Krótki czas reakcji pozwala przypuszczać, że kwas abscysynowy może wówczas działać na wierzchołek pędu, gdy jakiś nieznany stymulator kwitnienia dochodzi do tego miejsca rośliny. Kwas abscysynowy działa tutaj prawdopodobnie przeciwko dominacji wierzchołkowej pędu.

Podobnie El-Antably, Wareing i Hillman (4) w badaniach wpływu syntetycznego AbA na kwitnienie wykazali, że spryskiwanie roztworem

Tabela 6

Działanie kwasu abscysynowego na kwitnienie roślin długiego dnia

Gatunek	Doświad- czenia	Kontrola		Traktowane AbA	
		wegeta- tywne	kwitnące	wegeta- tywne	kwitnące
<i>Lolium temulentum</i>	1	0	16	16	0
	2	0	15	12	3
<i>Spinacia oleracea</i>	1	4	13	17	0
	2	4	11	13	2

Hamowanie kwitnienia roślin *Lolium temulentum* i *Spinacia oleracea* (szpinak) rosnących w warunkach długiego dnia przez potraktowanie kwasem abscysynowym. Wszystkie rośliny rosnące w warunkach krótkiego dnia pozostawały wegetatywne — zarówno traktowane jak i nietraktowane kwasem abscysynowym.

AbA liści *Lolium temulentum* i *Spinacia oleracea* hodowanych przez 15 dni w warunkach długiego dnia hamowało kwitnienie tych roślin, mimo że okres przebywania *Lolium temulentum* w warunkach dnia długiego był wielokrotnie dłuższy od potrzebnego (tabela 6). Z drugiej strony El-Antably i Wareing (3) oraz Nitsch (26) wykazali, że kwas abscysynowy (dormina) działa jako stymulator kwitnienia w roślinach krótkiego dnia. AbA syntetyczny działa stymulująco na kwitnienie takich roślin, jak *Pharbitis nil* (tabela 7) (4), *Chenopodium rubrum* (tabela 8) (4) i czarną porzeczkę (*Ribes nigrum*), jeżeli jest podawana roślinie

Tabela 7

Działanie kwasu abscysynowego na kwitnienie *Pharbitis nil*

Doświadczenie	Pąki traktowane AbA		Kontrola wodna	
	wegetatywne	kwitnące	wegetatywne	kwitnące
1	5	7	12	0
2	7	18	11	4
3	2	10	25	0
Razem	14	35	48	4

Tabela 8

Działanie kwasu abscysynowego na kwitnienie *Chenopodium rubrum*

Doświadczenie	Pąki traktowane AbA		Kontrola wodna	
	wegetatywne	kwitnące	wegetatywne	kwitnące
1	41	23	40	0
2	17	33	26	0

hodowanej w warunkach długiego dnia, ale nie działa w ten sposób na *Xantium pensylvanicum*, soję i tytoń. Inhibitor AbA wyekstrahowany z liści czarnej porzeczki rosnącej w warunkach krótkiego dnia stymulował kwitnienie, gdy podano go tej samej roślinie rosnącej w warunkach długiego dnia.

Również podanie CCC działa stymulująco na kwitnienie *Chenopodium rubrum*, jednak jej działanie łącznie z AbA było słabsze niż działanie każdej z tych substancji osobno.

Mechanizm działania kwasu abscysynowego

Współdziałanie kwasu abscysynowego ze znanymi regulatorami wzrostu roślin jest jeszcze przedmiotem licznych badań. O wynikach niektó-

rych z tych prac wspomniano omawiając rolę kwasu abscysynowego jako inhibitora wzrostu i kielkowania. Dane te mogą przyczynić się do wyjaśnienia fizjologicznego mechanizmu działania kwasu abscysynowego. Nie jest jeszcze poznany mechanizm biochemicznego oddziaływania kwasu abscysynowego w tych układach metabolicznych, o których wiadomo, że są sterowane przez roślinne substancje wzrostowe. Jednakże wyniki dotychczas opublikowanych prac pozwalają już na wyciągnięcie pewnych wniosków dotyczących miejsca kwasu abscysynowego w systemie czynników regulujących procesy metaboliczne.

Thomas, Wareing i Robinson (40) badali współdziałanie kwasu giberelinowego i AbA podczas wzrostu koleoptyli pszenicy. Jak wiadomo, działanie kwasu giberelinowego na wzrost koleoptyli jest bardzo słabe. Z drugiej strony wzrost koleoptyli hodowanych w obecności optymalnych stężeń kwasu indoloactowego może być znacznie zredukowany przez dodanie różnych stężeń AbA, natomiast równoczesne dodanie kwasu giberelinowego powoduje przywrócenie wzrostu do wartości kontrolnych. Dowodzi to, że jakkolwiek roślina nie reaguje na działanie kwasu giberelinowego w nieobecności AbA, to kwas abscysynowy stymuluje pobieranie kwasu giberelinowego przez koleoptyle.

Fakt, że poziom kwasu abscysynowego jest wysoki w roślinach długiego dnia a niski w roślinach krótkiego dnia, pozwala przypuszczać, że inhibitor ten hamuje syntezę stymulatorów, których ilość wzrasta w roślinie wraz ze zmniejszaniem się ilości kwasu abscysynowego. Podawanie AbA wyizolowanego z brzozy do liści siewek brzozy dawało w wyniku obniżenie poziomu zawartości auksyn i giberelin. Thomas, Wareing i Robinson (40) w oparciu o zjawisko stymulowania przez giberelinę syntezę α -amylazy w izolowanym endospermie jęczmienia (31) wykazali, że kwas abscysynowy podawany w różnych stężeniach do endospermu łącznie z roztworami gibereliny zmniejsza produkcję cukrów redukujących, gdy stężenia gibereliny nie są dość wysokie. Wynikałoby stąd, że kwas abscysynowy nie hamuje działania α -amylazy a przeciwdziała jej syntezie.

Tezę tę potwierdzili Chrisspels i Varner (11) w badaniach nad działaniem kwasu abscysynowego na komórki aleuronowe jęczmienia z zastosowaniem radioaktywnego fosforu ^{32}P oraz znakowanych ^{14}C leucyny i urydyny. Okazało się, że kwas abscysynowy nie zmniejsza syntezы innych białek i RNA, co pozwala przypuszczać, że na poziomie molekularnym działa on w tym samym miejscu co kwas giberelinowy.

Kwas abscysynowy zapobiega syntezie α -amylazy nie hamując równocześnie włączania znakowanej leucyny do innych białek komórkowych. Badania nad włączeniem radioaktywnego fosforu ^{32}P do warstwy aleuronowej wykazały również, że kwas abscysynowy nie oddziałuje na

fosorylację i oddychanie. Miejszem jego działania jest zatem najprawdopodobniej stymulowana przez kwas giberelinowy synteza specyficznego RNA.

Działanie kwasu abscysynowego na kierowaną przez DNA syntezę kwasu rybonukleinowego odpowiedzialnego za produkcję α -amylazy nie dopodobniej stymulowana przez kwas giberelinowy synteza specyficznego inhibitora syntezy RNA. Stwierdzono istnienie równowagi między przeciwstawnymi efektami wywoływanymi przez AbA i giberelinę, które zależą od stężeń obu czynników.

Ponadto Overbeeck i wsp., badając wpływ kwasu abscysynowego na włączenie ^{32}P w kwasy nukleinowe *Lemna minor*, zaobserwowali w pierwszej kolejności spadek intensywności biosyntezy DNA a dopiero następnie słabe hamowanie syntezy RNA. Kwas abscysynowy zachowuje się więc jak typowy represor w schemacie Monoda. AbA blokuje enzym syntetyzujący DNA łącząc się z nim w formę nieaktywną, zmieniając tym samym równowagę w produkcji DNA. Struktura kwasu abscysynowego pozwala przypuszczać, że w połączeniu tego związku z enzymem biorą udział wiązania wodorowe. Wiązania te mogą ulec łatwemu zerwaniu.

Schematem tym można także tłumaczyć fakt odwracalności stanu zahamowania syntezy DNA przez podanie benzyloadeniny, w przypadku jeżeli stężenie AbA nie przekraczało stanu krytycznego. W niektórych przypadkach efekt ten można również uzyskać stosując zamiast benzyloadeniny kwas giberelinowy lub IAA (11). W układzie tym zarówno cytokininy jak auksyny i gibereliny pełniłyby rolę induktorów syntezy α -amylazy.

Inne dane wskazują na rolę kwasu abscysynowego w procesach regulowania syntezy specyficznych białek również i w innych procesach fizjologicznych (42). Niemniej poznanie roli tego inhibitora i mechanizmu jego działania wymaga szeregu danych potwierdzających i uzupełniających omówione tutaj hipotezy.

W wyjaśnieniu wielu z tych problemów pomoże poznanie miejsca i mechanizmu biosyntezy kwasu abscysynowego w roślinie. Hipoteza Wareinga, że kwas abscysynowy jest syntetyzowany w liściach i transportowany z nich do innych organów rośliny, została potwierdzona przez Hoad'a (18), który wykazał, że AbA jest transportowany ksylemem. Z drugiej strony istnieją dane, że poziom AbA wzrasta w trakcie przechowywania owoców (36). Wynika stąd, że liście nie są jedynym miejscem syntezy kwasu abscysynowego. Taylor i Smith (39) wykazali, że AbA tworzy się *in vitro* z karotenoidów naświetlanych silnym światłem niebieskim w obecności tlenu i sądzą, że w ten sam sposób powstaje AbA w roślinie. Podwyższony poziom inhibitora w jesiennych liściach

tłumaczą oni rozpadem chlorofilu, umożliwiającym dostęp większości niebieskiego światła do wnętrza liści a co za tym idzie intensywniejszym rozpadem karotenoidów — prekursorów AbA. Potwierdzeniem tej hipotezy byłyby dane o wzroście poziomu AbA w trakcie dojrzewania owoców (36), jednakże nie tłumaczy ona zmian w poziomie AbA w roślinie obserwowanych w zależności od zmian fotoperiodycznych. Jest prawdopodobne, że w roślinie istnieje kilka dróg syntezy tego inhibitora.

Można przypuszczać, biorąc pod uwagę szeroki zakres procesów fizjologicznych regulowanych przez AbA w organizmie roślinnym, że substancja ta będzie w ciągu najbliższych lat przedmiotem intensywnych badań ze względu na możliwość szerokiego wykorzystania jej w praktyce rolniczej i że badania te doprowadzą w niedługim czasie do wyjaśnienia wielu z poruszonych w tym artykule problemów.

LITERATURA

1. Addicot F. T., Carns H. R., Lyon J. L., Smith O. E. Mc Means J. L.: *Regulateurs Naturels de la Croissance Vegetale* 687—703. Centre National de Recherche Scientifique. Paris, (1964).
2. Addicot F. T., Ohkuma K., Smith O. E., Thiessen W. E.: *Advances in Chemistry*, 97—105 (1966).
3. El-Antably H. M. M., Wareing P. F.: *Nature* 210, 328—329 (1966).
4. El-Antably H. M. M., Wareing P. F., Hillman J.: *Planta (Berl.)*, 73, 74—90 (1967).
5. Bennet-Clark T. A., Kefford N. P.: *Nature* 171, 645—648 (1953).
6. Carns H. R.: *Ann. Rev. Plant. Phys.* 17, 295 (1966).
7. Cornforth H. R., Milborrow B. V., Ryback G.: *Nature* 206, 715 (1965).
8. Cornforth R. R., Milborrow B. V., Ryback G., Wareing P. F.: *Nature* 205, 1269 (1965).
9. Conforth J., Milborrow B. V., Ryback G.: *Nature* 210, 627 (1966).
10. Conforth J., Milborrow B. V., Ryback G., Rothwell K. i Wain R. L.: *Nature* 211, 742—743 (1966).
11. Chrispeels M. J., Varne J. E.: *Nature* 212, 1066 (1966).
12. Dörffling K.: *Naturwiss.* 54, 1, 23—24 (1967).
13. Eagles C. F., Wareing P. F.: *Nature* 199, 874—875 (1963).
14. Eagles C. F., Wareing P. F.: *Physiol. Plant.* 17, 697 (1964).
15. Evans L. T.: *Science* 151, 107—108 (1966).
16. Hemberg T.: *Physiol. Plant.* 11, 615—626 (1958).
17. Hemberg T., Larson L.: *Physiol. Plant.* 14, 961—867 (1961).
18. Hoad G. V.: *Life Sciences* 6, 1113—1118 (1967).
19. Kamiński W.: *Acta Soc. Bot. Pol.* 1969, 37 (1) 173—178.
20. Köckemann A.: *Ber. dtsh. bot. Ges.* 52, 523 (1934).
21. Köckemann A.: *Beich. Bot. Centralbl.* 55, 191—196 (1936).
22. Lipe W. N., Crane J. C.: *Science* 153, 541 (1966).
23. Liu W. C., Carns H. S.: *Science* 134, 384—385 (1961).
24. Milborrow B. V.: *Planta (Berl.)* 70, 2, 155—171 (1966).

25. Milborrow B. V.: *Planta* (Berl.) 76, 2, 93—113 (1967).
26. Nitsch C., Nitsch J. P.: *Planta* (Berl.) 72, 371—384 (1967).
27. Ohkuma K., Smith O. E., Lyon J. L., Addicott F. T.: *Science* 142, 1592—1593 (1963).
28. Ohkuma K., Addicott F. T., Smith O. E., Thiessen W. E.: *Tetrahedron Letters* 29, 2529—2535 (1965) Pergamon Press Ltd.
29. Osborne D. J.: *Nature* 176, 1165—1166 (1955).
30. J. Van Overbeck, Loeffler J. E., M. Iona, R. Mason: *Science* 156, 1497—1499 (1967).
31. Paleg L.: *Plant Physiol.* 36, 829 (1961).
32. Pieniążek J., Grochowska M.: *Acta Soc. Bot. Pol.* 36, 3, 579—587 (1967).
33. Pieniążek J., Rudnicki R.: *Bull. Acad. Polonaise Des Sciences ser. biol.* 15, 251—254 (1967).
34. Robinson P. M., Wareing P. F.: *Physiol Plant.* 17, 2, 314 (1964).
35. Robinson P. M., Wareing P. F., Thomas T. H.: *Nature* 199, 875—876 (1963).
36. Rudnicki R., Pieniążek J., Pieniążek N.: *Bull. Acad. Polon. Sci. ser. biol.* 16 (2), 127—130, 1968.
37. Sondheimer E., Galson E.: *Plant Physiol.* 41, 1397 (1966).
38. Sumner D. C., Lyon J. L.: *Planta* 75, 28—32 (1967).
39. Taylor H. F., Smith T. A.: *Nature* 215, 1513 (1967).
40. Thomas T. H., Wareing P. F., Robinson P. M.: *Nature* 205, 1270—1272 (1965).
41. Varga M. B., Ferenczy L.: *Naturwiss.* 44, 398—399 (1957).
42. Wareing P. F., J. Good, J. Manuel: (Rostock) Symposium „Wachstumsregulatoren bei Pflanzen” Rostock 1966) *Wiss. Z. d. Univ. Rostock, Math-naturwiss Reihe* 16, Heft 4/5 (1967).
43. Wareing P. F., Eagles C. F., Robinson P. M.: *Reg. Nat. Crois. Veget.* 377—386. Paris, 1964.